



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 102 42 445.4

Anmeldetag: 11. September 2002

Anmelder/Inhaber: ScheBo®.Biotech AG, Gießen/DE

Bezeichnung: N-(4'-Trifluoromethylphenyl)-5-methylisoxazole-4-carboxamid als Mittel zur Behandlung von Tumorerkrankungen

IPC: C 07 D 261/12

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 16. Juli 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Albrecht, Lüke & Jungblut

Patentanwälte
Gelfertstr 56, 14195 Berlin

DE-Patentanmeldung

Dipl.-Ing. Hans Albrecht
Patentanwalt (1933 - 1979)

Dipl.-Ing. Dierck-Wilm Lüke
Patentanwalt / European Patent Attorney /
European Trademark Attorney

Dipl.-Chem. Dr. Bernhard Jungblut
Patentanwalt / European Patent Attorney /
European Trademark Attorney

Anwaltsakte: SCHE/DE/0204

Datum: 11.09.02

Anmelder: ScheBo®.Biotech AG
Netanyastrasse 3 - 5
D-35394 Giessen

Titel: N-(4'-Trifluoromethylphenyl)-5-methylisoxazole-4-carboxamid
als Mittel zur Behandlung von Tumorerkrankungen

Erfinder: Dr. Hans SCHEEFERS, Krofdorfer Str. 59, D-35435
Wettenberg-Wißmar,

Priorität: ---

N-(4'-Trifluoromethylphenyl)-5-methylisoxazole-4-carboxamid
als Mittel zur Behandlung von Tumorerkrankungen

5 Gebiet der Erfindung.

Die Erfindung betrifft Verbindungen zur Modulation des
Glykolyse-Enzym- und/oder Transaminase-Komplexes und
folglich insbesondere Wachstums hemmung von Zellen und/oder
10 Bakterien, pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend
solche Verbindungen sowie Verwendungen von solchen
Verbindungen zur Herstellung von pharmazeutischen
Zusammensetzungen zur Behandlung verschiedener
Krankheiten.

15

Hintergrund der Erfindung.

Krebs ist heutzutage eine der häufigsten Todesursachen und
20 die Zahl der Krebsfälle in den industrialisierten Ländern
nimmt ständig zu. Das beruht vor allem darauf, daß maligne
Tumoren eine Erkrankung des höheren Lebensalters sind und
dank der erfolgreichen Bekämpfung von Infektionskrank-
heiten jetzt mehr Menschen dieses Alter erreichen. Trotz
25 aller Fortschritte auf diagnostischem und therapeutischem
Gebiet liegen die Heilungsaussichten für die am häufigsten
auftretenden inneren Krebsformen selten über 20%. Eine
Krebsgeschwulst kann derzeit vernichtet oder in ihrem
Wachstum gehemmt werden. Eine Rückbildung einer Tumorzelle
30 in eine normale Zelle lässt sich noch nicht erreichen. Die
wichtigsten therapeutischen Maßnahmen, die Operation und
die Bestrahlung, entfernen Krebszellen aus dem Organismus.
Auch die derzeit gebräuchlichen Chemotherapeutika des

Krebses, die Zytostatika, führen nur zu einer Zerstörung oder Schädigung von Tumorzellen. Die Wirkung ist in den meisten Fällen so wenig spezifisch, daß gleichzeitig schwere Schäden an gesunden Zellen auftreten.

5

Im allgemeinen weisen Tumorzellen einen von gesunden Zellen abweichenden Metabolismus, insbesondere Glycolyse, auf. So ist eine Änderung des in die Glycolyse involvierten Isoenzym Systems und eine Änderung in dem Transport von NADH für Tumorzellen typisch. U.a. ist die Aktivität der Enzyme der Glycolyse erhöht. Dies erlaubt auch hohe Umsätze unter den bei Tumorzellen typischen aeroben Bedingungen. Im Detail wird hierzu auf E. Eigenbrodt et al., Biochemical an Molecular Aspects of
10 Selected Cancers, Vol. 2, S. 311 ff., 1994, verwiesen.

Auch verschiedene andere, folgend genannte Krankheiten gehen entweder mit einer (übermäßigen) Verstoffwechselung über den Glykolyse-Enzymkomplex einher und lassen sich
20 durch dessen Reduktion bzw. Hemmung behandeln.

Stand der Technik.

25 Aus der Literaturstelle E. Eigenbrodt et al., Biochemical an Molecular Aspects of Selected Cancers, Vol. 2, S. 311 ff., 1994, ist es bekannt, zur Hemmung der Glycolyse Glucoseanaloge einzusetzen. Andere hieraus bekannte Ansätze sind der Einsatz von Inhibitoren glycolytischer
30 Isoenzyme, beispielsweise durch geeignete Komplexbildung oder Inhibierung von Komplexbildungen. Im Ergebnis werden Tumorzellen gleichsam ausgehungert. Problematisch bei den vorstehenden Verbindungen ist, daß viele davon

3

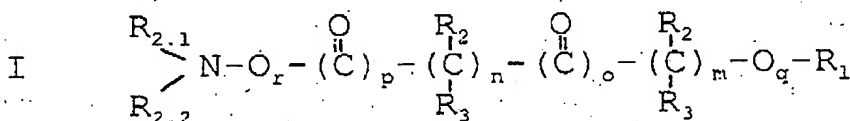
geneotoxisch sind und/oder nicht hinreichend spezifisch für Tumorzellen.

5 Technisches Problem der Erfindung.

Der vorliegenden Erfindung liegt das technische Problem zu Grunde, Wirkstoffe anzugeben, welche in der Lage sind, den Glykolyse-Enzym- und Transaminase-Komplex zu modulieren bzw. zu hemmen, insbesondere die Proliferation von Krebszellen und somit das Wachstum neoplastischer Tumore zu hemmen sowie überschießende Abwehrreaktionen des Körpers, wie z.B. septischer Schock, Autoimmunerkrankungen, Transplantatabstoßungen sowie akute und chronische Entzündungsreaktionen zu inhibieren, und zwar bei gleichzeitig lediglich geringfügiger bis keiner Zytotoxizität gegenüber Zellen mit intaktem Glykolyse-Enzym-Komplex oder anderen Komplex-Strukturen. Zusätzlich soll das Wachstum von unizellulären Organismen gehemmt werden.

Grundzüge der Erfindung.

25 Zur Lösung dieses technischen Problems lehrt die Erfindung eine Verbindung gemäß Formel I



30

wobei R1 = -CN, -COO⁺, -COS⁺, -COOH, -COSH, -COOR1.1,
-COSR1.1, wobei R1.1 = -H, C1-10 Alkyl, C1-10 Aralkyl bzw.
Aryl, wobei R2 = -H, -OR1.1, -Hal (-F, -Cl, -Br, -J),
-NR2.1R2.2, -Am, -O-Am, -S-Am, wobei R3 = -H, -OR1.1, -Hal
5 (-F, -Cl, -Br, -J), -NR2.1R2.2, -Am, -O-Am, -S-Am, wobei
R2.1 = -H, C1-10 Alkyl, C1-10 Aralkyl bzw. Aryl, wobei
R2.2 = -H, C1-10 Alkyl, C1-10 Aralkyl bzw. Aryl, wobei
R2.1 und R2.2 gleich oder verschieden sein können, wobei n
und m gleich oder verschieden und 0 bis 10 sein können,
10 wobei o und p gleich oder verschieden und 0 bis 3 sein
können, wobei o > 0 ist, wenn n und m = 0 sind, wobei R2
und R3 für Cn und Cm gleich oder verschieden sein können,
wobei R2 für jedes Cx=1...n gleich oder verschieden sein
kann, wobei R3 für jedes Cy=1...m gleich oder verschieden
15 sein kann, wobei -Am einen Aminosäurenrest darstellt,
wobei q und r = 0 oder 1 sowie gleich oder verschieden
sind, wobei -O₂- und/oder -O₂- auch durch -S₂- bzw. -S₂-
ersetzt sein kann, wobei -NR2.1R2.2 ersetzt sein kann
durch lineares oder verzweigtes -C1-C20 Alkyl, oder ein
20 physiologisch verträgliches Salz einer solchen Verbindung.

Ein Aminosäurenrest ist in einer Aminosäure wie folgt
definiert: NH₂-CHAm-COOH. In Frage kommen insbesondere Ami-
nosäurenreste der proteinogenen Aminosäuren, speziell der
25 essentiellen Aminosäuren. Soweit eine erfindungsgemäße
Verbindung optische Aktivität aufweist (beispielsweise
gemäß Ausführungsformen des Anspruches 3), sind die ver-
schiedensten Varianten, wie L- und D-Form mit umfaßt. Ent-
sprechendes gilt im Falle (mehrerer) chiraler Zentren.

30

Besonders geeignet sind erfindungsgemäße Verbindungen,
wobei R2 zumindest einfach als -Am vorliegt, wobei -Am
vorzugsweise einen Aminosäurenrest einer essentiellen

Aminosäure darstellt, wobei insbesondere $q = 0$ und $r = 1$ oder $q = 1$ und $r = 0$ oder $q = 1$ und $r = 1$, $m = 1$, $R3 = -H$, $n = o = p = 0$, $R2.1 = R2.2 = -H$ ist.

- 5 Desweiteren sind verschiedene konkrete Gruppen bevorzugt, nämlich: i) wobei $n = o = p = 0$ ist, wobei $m = 0$ bis 4 ist, wobei $R2 = R3 = -H$ ist, wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist, ii) wobei $m = p = 0$ ist, wobei $o = 1$ ist, wobei $n = 0$ bis 4 ist, wobei $R2 = H$ ist, wobei $R3 = -H$ oder $-Hal$ im Falle von $Cx=1$ ist, wobei $R3 = -H$ ist für alle $Cx=n>1$, wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist, iii) wobei $m = 1$ bis 4 ist, wobei $n = o = p = 0$ ist, wobei $R2 = H$ ist, wobei $R3 = -H$ oder $-Hal$ im Falle von $Cy=1$ ist, wobei $R3 = -H$ ist für alle $Cy=m>1$, 15 wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist, iv), wobei $o = p = 1$ ist, wobei $m = 0$ ist, wobei $n = 0$ bis 4 ist, wobei $R2 = R3 = -H$ ist, wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist, v), wobei $n = p = 0$ ist, wobei $o = 1$ ist, wobei $m = 0$ bis 4 ist, wobei $R2 = R3 = -H$ ist, 20 wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist, oder vi) wobei $m = p = 0$ ist, wobei $o = 1$ ist, wobei $n = 1$ bis 4 ist, wobei $R2 = R3 = -H$ ist, wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist.
- 25 Generell kann ein $R2$ durch $-Am$ ersetzt sein.

Beispiele für Verbindungen, in denen $-NR2.1R2.2$ ersetzt ist durch $-C1-C20$ Alkyl sind: $CH_3-O-(CH_2)_m-R1$, $CH_3-O-CO-(CH_2)_m-R1$, $CR5R6R7-O-(CH_2)_m-R1$, 30 $CR5R6R7-O-CO-(CH_2)_m-R1$, wobei $R5$, $R6$ und $R7$ $-C1-C10$ Alkyl, linear oder verzweigt, nicht substituiert oder substituiert, sein kann. (CH_2) kann selbstverständlich auch $(CR2R3)$ sein. $-O-$ bzw. $=O$ kann durch $-S-$ bzw. $=S$ ersetzt

sein. R1 ist wie vorstehend angegeben. CR5R6R7 kann insbesondere t-Butyl sein.

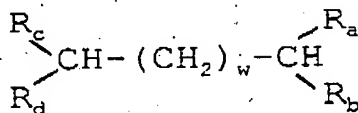
Beispiele für erfindungsgemäße Verbindungen sind:

5 $\text{NH}_2\text{-O-}(\text{CH}_2)_x\text{-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-}(\text{CH}_2)_x\text{-CO-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-CHHal-}(\text{CO})_x\text{-R1}$,
 $\text{NH}_2\text{-O-CHHal-CH}_2\text{-}(\text{CO})_x\text{-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-CHHal-}(\text{CH}_2)_x\text{-}(\text{CO})_x\text{-R1}$,
 $\text{NH}_2\text{-O-CHHal-}(\text{CH}_2)_3\text{-}(\text{CO})_6\text{-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-CHHal-}(\text{CH}_2)_4\text{-}(\text{CO})_6\text{-R1}$,
 $\text{NH}_2\text{-O-CO-}(\text{CH}_2)_n\text{-CO-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-CO-}(\text{CH}_2)_n\text{-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-}(\text{CH}_2)_n\text{-CO-R1}$,
 $\text{NH}_2\text{-O-CO-}(\text{CH}_2)_n\text{-CHNH}_2\text{-R1}$, $\text{NH}_2\text{-O-}(\text{CH}_2)_n\text{-CHNH}_2\text{-R1}$, mit $\text{R1} = \text{-CN}$
10 oder =COOH , m bzw. $n = 0-4$, $o = 0$ oder 1 , wobei -O- durch
 S ersetzt sein kann.

Eine andere erfindungsgemäße Formel ist Formel II



II

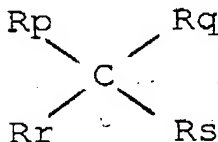


wobei $R_a = -CN$, $R_b = -H, =O, -OH, -NH_2$, $R_c = -NH_2, -O-NH_2$,
 $-O-(C1-10)Alkyl$, $R_d = -H, -Hal, =O, -OH$, wobei im Falle von
 $=O$ das H eines CH entfällt, wobei $w = 0-10$, z.B. 1 bis 4.

Eine weitere erfindungsgemäße Formel ist Formel III



III



30

$$\begin{aligned} \text{wobei } R_p = & -R_1, -O-R_1, -O-(CR_2R_3)_x-R_1, -(CR_2R_3)_x-O-R_1, R_q = \\ & -NR_2.1R_2.2, -O-NR_2.1R_2.2, -O-(CR_2R_3)_x-NR_2.1R_2.2, \\ & -(CR_2R_3)_x-O-NR_2.1R_2.2, R_r = -Am, -O-Am, -O-(CR_2R_3)_x-Am, \end{aligned}$$

- (CR₂R₃)_x-O-Am, R_s = -H, -C₁-C₁₀ Alkyl, Aryl oder Aralkyl, -C₁-C₁₀ Hydroxyalkyl, Aryl oder Aralkyl, oder ein Ether eines solchen Hydroxyrestes, wobei -O- ersetzt sein kann durch -S- und x = 1 bis 10, insbesondere 1 bis 4. R₁ ist wie vorstehend angegeben, insbesondere -CN oder -COOH. Beispiele solcher Verbindungen sind: NH₂-O-CHAm-R₁, NH₂-CHAm-O-R₁, NH₂-O-CHAm-O-R₁, NH₂-CHR₁-O-Am, Am-O-CHNH₂-O-R₁, NH₂-O-(Am-O-CH-O-R₁). Auf einer Seite eines -O- oder mehrerer -O- oder auf beiden Seiten eines -O- oder mehrerer -O- kann unmittelbar -(CH₂)_x- zwischengeschaltet sein.

Die Erfindung beruht auf der Erkenntnis, daß neben den klassischen Stoffwechselerkrankungen, wie Diabetes mellitus, Adipositas auch andere Erkrankungen, wie Krebs, Autoimmunerkrankungen und Rheuma durch Stoffwechselentgleisungen verursacht werden. Dies erklärt den starken Einfluss der Ernährung auf diese Erkrankungen. Ein direkter messbarer biochemischer Parameter für diese Stoffwechselentgleisungen ist der Anstieg der Pyruvatkinase Typ M2 (M2-PK), die im Blut von Patienten aller vorstehend und folgend genannter Erkrankungen ansteigt. In Abhängigkeit von der jeweiligen Erkrankung kommt die im Blut der Patienten nachweisbare M2-PK aus unterschiedlichen Zellen: bei Krebs aus Tumorzellen, bei Sepsis aus Immunzellen, bei Rheuma aus Immun- und/oder Sinovialzellen. In gesunden Zellen findet sich die tetramere Form der M2-PK in einem hoch geordneten cytosolischen Komplex, dem Glykolyse-Enzym-Komplex. Durch die Überaktivierung von Oncoproteinen kommt es zur Auswanderung der M2-PK aus dem Komplex und zu den typischen Veränderungen im Tumor-Stoffwechsel. Gleichzeitig verlässt die Phosphoglyceromutase (PGM) den Komplex und wandert in einen anderen Enzym-Komplex, in dem

cytosolische Transaminasen assoziiert sind (siehe Beispiel 2). Dieser Komplex wird daher als Transaminase-Komplex bezeichnet. Das Substrat der PGM, Glycerat-3-P, ist die Vorstufe für die Synthese der Aminosäuren Serin und Glycin. Beide Aminosäuren sind essentiell für die DNA- und Phospholipid-Synthese. Durch das Einwandern der PGM in den Transaminase-Komplex wird die Synthese von Serin aus Glutamat und damit die Glutaminolyse aktiviert. Die gleichen Veränderungen finden in Immunzellen statt, wenn das Immunsystem entgleist, wie beispielsweise bei Rheuma, Sepsis oder Polytrauma. Die Integration des Stoffwechsels von verschiedenen Zellen in multizellulären Organismen erfolgt durch Organ-spezifische Assoziation der Enzyme im Cytosol: im Muskel z.B. durch Assoziation mit Kontraktionsproteinen. Aus diesem Grund sind die verschiedenen Organe mit jeweils spezifischen Isoenzymen ausgestattet. Die Auflösung dieser Ordnung führt zwangsläufig zu Erkrankungen. Unizelluläre Organismen, wie Bakterien oder Hefen, die auf ausreichendes Nahrungsangebot mit ungezügelter Proliferation reagieren, besitzen keine komplexe Organisation des Cytosols. Folglich hemmen Substanzen, die den entgleisten Stoffwechsel von multizellulären Organismen hemmen, auch die Proliferation von solchen unizellulären Organismen.

25

Die Erfindung lehrt weiterhin die Verwendung einer erfindungsgemäßen Verbindung zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung einer oder mehrerer Erkrankungen aus der Gruppe bestehend aus "Krebs, chronische Entzündungen, Asthma, Arthritis, Osteoarthritis, chronische Polyarthritis, rheumatische Arthritis, Inflammatory bowel disease, degenerative Gelenkerkrankungen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises mit

Knorpelabbau, Sepsis, Autoimmunerkrankungen, Typ I Diabetes, Hashimoto-Thyreoiditis, Autoimmunthrombozytopenie, Multiple Sklerose, Myasthenia gravis, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Morbus Crohn, Uveitis, Psoriasis, 5 Kollagenosen, Goodpasture-Syndrom, Erkrankungen mit gestörter Leukozyten-Adhäsion, Cachexie, Erkrankungen durch erhöhte TNFalpha Konzentration, Diabetes, Adipositas, bakterielle Infektionen, insbesondere mit resistenten Bakterien". Der Begriff der Behandlung umfaßt auch die 10 Prophylaxe.

Die Erfindung lehrt des weiteren eine pharmazeutische Zusammensetzung, wobei eine erfindungsgemäße Verbindung mit einem oder mehreren physiologisch verträglichen 15 Hilfstoffen und/oder Trägerstoffen gemischt und galenisch zur lokalen oder systemischen Gabe, insbesondere oral, parenteral, zur Infusion bzw. Infundierung in ein Zielorgan, zur Injektion (z.B. i.v., i.m., intrakapsulär oder intralumbal), zur Applikation in Zahntaschen (Raum 20 zwischen Zahnwurzel und Zahnfleisch) hergerichtet ist.

Die Erfindung lehrt schließlich die Verwendung einer erfindungsgemäßen Verbindung zur in vitro Hemmung des Glykolyse-Enzymkomplexes, insbesondere von Pyruvatkinase, 25 Asparaginase, Serindehydratasen, Transaminasen, Desaminasen, und/oder Glutaminasen. Blockiert werden insbesondere die Transaminierung, die oxidative Desaminierung, die hydrolytische Desaminierung, die eliminierende Desaminierung und die reduktive Desaminierung.

30

Es versteht sich, daß ggf. für Verbindungen nach Formel I verschiedenen Stereoisomere existieren können, welche alle Gegenstand der Erfindung sind. Der Begriff

Alkyl umfaßt lineare und verzweigte Alkygruppen sowie Cycloalkyl, ggf. auch Cycloalkylgruppen mit linearen oder verzweigten Alkylsubstituenten. Der Begriff Aryl umfaßt auch Aralkylgruppen, wobei Alkylsubstituenten 5 Alkyl oder Cycloalkyl sein können.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß erfindungsgemäße Verbindungen in der Lage sind, die vorstehend genannten Mitglieder der Glykolyse-Enzymkomplexes kompetitiv zu hemmen. So kann die Proliferation von 10 Krebszellen in therapeutisch relevanten Konzentrationen gehemmt werden. Dabei ist in dem in Frage kommenden Dosisbereich keine zytotoxische Wirkung zu erwarten. Aufgrund ihrer pharmakologischen 15 Eigenschaften eignen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen auch hervorragend zur Behandlung und Prophylaxe der weiteren, vorstehend aufgezählten Erkrankungen. Im Zusammenhang mit den Indikationen zur Entzündungshemmung bzw. antirheumatische Wirkung ist 20 von besonderer Relevanz, daß es sich bei den erfindungsgemäßen Substanzen um nicht-steroidale Substanzen handelt.

Die Hemmung des Glykolyse-Enzym- und des Transaminase- 25 Komplexes umfaßt insbesondere die Hemmung der Verstoffwechselung und des Energiegewinns aus Serin, Glutamin, Ornithin, Prolin und Arginin oder aus anderen Aminosäuren dieser oder anderer Familien, aber auch die Synthese solcher zur Energieerzeugung genutzten 30 Aminosäuren; wichtigen Energiequellen beispielsweise in Tumorzellen, aber auch in Bakterien und Hefen. Die Zellen bzw. Bakterien oder Hefen werden gleichsam ausgehungert. Im Einzelnen blockieren

erfindungsgemäße Substanzen beispielsweise die folgenden Reaktionen: i) Threonin zu Glycin, ii) Threonin zu α -Amino- β -ketobutyrat, iii) α -Amino- β -ketobutyrat zu Glycin, iv) Serin-Pyridoxalphosphat (PLP) Schiff'sche Base zu Aminoacrylat, insbesondere die Folsäure-abhängige Serinhydroxymethyltransferase, v) Aminoacrylat zu Pyruvat (durch Verschiebung des Gleichgewichts der natürlichen Hydrolyse der PLP Schiff'schen Base hin zur Schiff'schen Base), vi) Transaminierung mittels PLP zur Synthese einer Aminosäure aus einer Oxosäure, insbesondere der verzweigtkettigen Transaminase, die α -Ketoglutarat, Oxalacetat, 3-Hydroxypyruvat und Glyoxalat Transaminase, die Glutamat Dehydrogenase. Insbesondere wird mit erfindungsgemäßen Substanzen die Bildung von Pyruvat aus Aminosäuren gehemmt. Wichtig ist die Freisetzung von NH_2 -OH oder CH_3 -OH (-H an C oder N ggf. ersetzt durch andere Reste, beispielsweise Alkyl) durch Glutaminase, Arginase, Asparaginase oder Serinhydroxymethyltransferase. Dies führt zu einer erhöhten Spezifität, da ein Charakteristikum von Tumorzellen eine hohe Glutaminase und Serinhydroxymethyltransferase Aktivität ist. NH_2 -OH (Hydroxylamin) beispielsweise kann von den hohen Pyruvatkinase Aktivitäten anstelle des -OH des Phosphates (z.B. des ADP) phosphoryliert werden. Dies führt zur Entkoppelung der Pyruvatkinase-Reaktion in Tumorzellen.

Im Rahmen der Erfindung sind diverse weitere Ausführungsformen möglich. So kann eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung mehrere verschiedene, unter die vorstehenden Definitionen fallende Verbindungen enthalten. Weiterhin kann eine

erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung
zusätzlich einen von der Verbindung der Formel I ver-
schiedenem Wirkstoff enthalten. Dann handelt es sich
um ein Kombinationspräparat. Dabei können die ver-
5 schiedenen eingesetzten Wirkstoffe in einer einzigen
Darreichungsform präpariert sein, i.e. die Wirkstoffe
sind in der Darreichungsform gemischt. Es ist aber
auch möglich, die verschiedenen Wirkstoffe in räumlich
getrennten Darreichungsformen gleicher oder ver-
10 schiedener Art herzurichten.

Als Gegenionen für ionische Verbindungen nach Formel I
kommen Na^+ , K^+ , Li^+ , Cyclohexylammonium, oder basische
Aminosäuren (z.B. Lysin, Arginin, Ornithin, Glutamin) in
15 Frage.

Die mit erfindungsgemäßen Verbindungen hergestellten
Arzneimittel können oral, intramuskulär, periartikulär,
intraartikulär, intravenös, intraperitoneal, subkutan oder
20 rektal verabreicht werden.

Die Erfindung betrifft auch Verfahren zur Herstellung von
Arzneimitteln, die dadurch gekennzeichnet sind, dass man
mindestens eine Verbindung der Formel I mit einem
25 pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen
Träger und gegebenenfalls weiteren geeigneten Wirk-,
Zusatz- oder Hilfsstoffen in eine geeignete
Darreichungsform bringt.

30 Geeignete feste oder flüssige galenische
Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulate, Pulver,
Dragees, Tabletten, (Mikro) Kapseln, Suppositorien,
Sirupe, Säfte, Suspensionen, Emulsionen, Tropfen oder

13

injizierbare Lösungen sowie Präparate mit protrahierter Wirkstoff-Freigabe, bei deren Herstellung übliche Hilfsmittel wie Trägerstoffe, Spreng-, Binde-, Überzugs-, Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel und Lösungsvermittler, Verwendung finden.

Als Hilfsstoffe seien Magnesiumcarbonat, Titandioxid, Laktose, Mannit und andere Zucker, Talkum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Cellulose und ihre Derivate, tierische und pflanzliche Öle wie Lebertran, Sonnenblumen-, Erdnuß- oder Sesamöl, Polyethylenglykole und Lösungsmittel, wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige Alkohole, z.B. Glycerin, genannt.

15 Vorzugsweise werden die Arzneimittel in Dosierungseinheiten hergestellt und verabreicht, wobei jede Einheit als aktiven Bestandteil eine definierte Dosis der erfindungsgemäßen Verbindung gemäß Formel I enthält. Bei festen Dosierungseinheiten wie Tabletten, Kapseln, Dragees oder Suppositorien kann diese Dosis 1 bis 1000 mg, bevorzugt 50 bis 300 mg, und bei Injektionslösungen in Ampullenform 0,3 bis 300 mg, vorzugsweise 10 bis 100 mg, betragen.

25 Für die Behandlung eines erwachsenen, 50 bis 100 kg schweren, beispielsweise 70 kg schweren, Patienten sind beispielsweise Tagesdosen von 20 bis 1000 mg Wirkstoff, vorzugsweise 100 bis 500 mg, indiziert. Unter Umständen können jedoch auch höhere oder niedrigere Tagesdosen angebracht sein. Die Verabreichung der Tagesdosis kann sowohl durch Einmalgabe in Form einer einzelnen Dosierungseinheit oder aber mehrerer kleinerer

Dosierungseinheiten als auch durch Mehrfachgabe unterteilter Dosen in bestimmten Intervallen erfolgen.

Im Folgenden wird die Erfindung anhand von lediglich 5 Ausführungsformen darstellenden Beispielen näher erläutert.

Beispiel 1: Quantifizierung der Wirksamkeit einer erfindungsgemäßen Verbindung

10

Einsetzbare Novikoff-Hepatom-Zellen sind von der Tumorbank des Deutschen Krebsforschungszentrums, Heidelberg, (Cancer Research 1951, 17, 1010) erhältlich. Es werden je 100.000 Zellen pro 25cm²-Kultivierungsflasche ausgesät. Eine 15 erfindungsgemäße Substanz wird, gelöst in einem für den Einsatz in Zellkulturen geeigneten Lösungsmittel wie z.B. Wasser, verd. Ethanol, Dimethylsulfoxid o.ä., in steigender Konzentration dem Kulturmedium zugesetzt, z.B. im Konzentrationsbereich von 80µM - 5000µM oder von 100µM 20 - 300 µM). Nach vier Kultivierungstagen wird die Zellzahl pro Flasche ausgezählt. Im Vergleich zu der Kontrollprobe (ohne Zugabe einer erfindungsgemäßen Verbindung oder mit ersatzweiser Zugabe einer Referenzverbindung) erkennt man das Maß und die Dosisabhängigkeit einer 25 Proliferationshemmung der eingesetzten Verbindung.

Beispiel 2: Auswanderung der PGM

In der Figur 1 ist eine isoelektrische Fokussierung eines 30 Tumorzellextraktes (MCF-7 Zellen) gezeigt. Man erkennt, daß PGM den Glykolyse-Enzym-Komplex verläßt und in einen mit den cytosolischen Transaminasen assoziierten Komplex, dem Transaminase-Komplex, wandert. Der Transaminase-

15

Komplex ist wie folgt zusammengesetzt: cytosolische
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), c-Malat-Dehydro-
genase (MDH), Phosphoglyceromutase (PGM). Nicht gezeigt
sind: c-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), c-Glutamat-
5 Hydroxypyruvat-Transaminase, c-Alanin-Hydroxypyruvat-
Transaminase, c-Serin-Hydroxymethyl-Transferase und
c-Glutamat-Dehydrogenase (GIDH). Die PGM und die
Nukleotid-Diphosphatkinase (NDPK) können sowohl im
Transaminase- als auch im Glycolyse-Enzym-Komplex
10 assoziiert sein.

15

20

25

30

Die Erfindung lehrt in aller Allgemeinheit desweiteren die Verwendung von N-(4'-trifluoromethylphenyl)-5-methylisoxazole-4-carboxamid ($C_{12}H_9F_3N_2O_2$; MW 270,2, siehe auch Formel 10) und/oder seines natürlichen aktiven Metaboliten

5 A 77 1726 gemäß Formel 11 zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere von soliden Tumoren, bzw. Tumorgeweben oder Tumorzellen enthaltenden Geweben. Die erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung ist besonders zur

10 Behandlung großer Tumore geeignet, i.e. ab 0,1 bis 1 cm³ Tumorgroße. Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung ist beispielsweise zur oralen Gabe hergerichtet, beispielsweise mit folgenden Hilfs- und Trägerstoffen: kolloidales SiO₂, Crospovidon, Hydroxypropyl-

15 methylcellulose, Laktosemonohydrat, Magnesiumstearat, Polyethylenglykol, Povidon, Stärke, Talkum, TiO₂, und/oder gelbes Eisenoxid. Die Dosierung beträgt täglich 1 bis 50 mg, vorzugsweise 10 bis 30 mg. Es kann sich empfehlen, anfangs einer Therapie eine Startdosis von 20 bis 500 mg,

20 insbesondere 50 bis 150 mg, für die ersten 1 bis 10 Tage, insbesondere ersten 1 bis 3 Tage, zu verabreichen. In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung wird die eingangs genannte Substanz mit einem oder mehreren Zuckerphosphaten, beispielsweise Fructose-1,6-bisphosphat,

25 Glycerat-2,3-bisphosphat, Glycerat-3-Phosphat, Ribose-1,5-bisphosphat, Ribulose-1,5-bisphosphat, kombiniert, wobei die Stoffkombination in einer Darreichungsform, beispielsweise Tablette, gemischt sein kann. Es ist aber auch möglich, die Komponenten separat in

30 gleichen oder verschiedenen Darreichungsformen zur Verfügung zu stellen. Das Zuckerphosphat kann in einer Dosierung von 20 bis 5000 mg pro Tag, beispielsweise 100 bis 500 mg, verabreicht werden.

Diese Varianten der Erfindung führt überraschenderweise zur Hemmung des Wachstums von Tumorzellen und Tumorgewebe, weil diese Substanzen bzw. der Metabolit an den Pyruvat-kinase Komplex binden und somit den für Tumorzellen entgleisten Energiestoffwechsel hemmen oder rückgängig machen können. Aus diesen Zusammenhängen ergibt sich als besonderer Vorteil, daß diese Substanzen spezifisch in den "entgleisten" Energie Stoffwechsel, insbesondere der Glykolyse, von Tumorzellen bzw. von Tumorzellgewebe und nicht oder nur wenig in jenen von Normalzellen bzw. Geweben hieraus eingreifen und somit allenfalls geringe Nebenwirkungen auftreten.

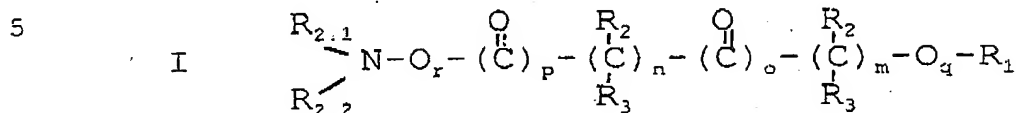
Die Wirksamkeit dieser Substanzen ist deshalb überraschend, weil die bekannte Wirkung als Pyrimidinsynthesehemmer einen völlig anderen Wirkmechanismus betrifft und die bekannte phänomenologische Beobachtung einer antiproliferativen Wirkung im Wesentlichen auf Immunzellen und Zellen, die im Zusammenhang mit inflammatorischen Erkrankungen stehen, gerichtet ist.

Von besonderer Bedeutung ist auch eine Kombination eines oder mehrerer der auf der vorangehenden Seite genannten Wirkstoffe mit einem oder mehreren der weiter vorangehenden Wirkstoffe oder Aminooxyacetat (AOA, $\text{NH}_2\text{-O-CH}_2\text{-COOH}$, Salze oder Ester, beispielsweise C1 -C10 Alkyl- oder Hydroxyalkylester, hiervon). Z.B. AOA ist insbesondere auf kleine Tumore ($< 0,1$ bis 1 cm^3) wirksam bzw. verhindert deren Bildung, insbesondere die Metastasenbildung, während Verbindungen der Formeln 10 oder 11, ggf. in Kombination mit Zuckerphosphat gegen die großen Tumore wirksam ist. Grund hierfür sind die unterschiedlichen Stoffwechsel in kleinen bzw. großen Tumoren. Die vorstehenden Ausführungen zu Kombinationen gelten analog.

18

Patentansprüche:

1. Verbindung gemäß Formel I



- 10 wobei R1 = -CN, -COO+, -COS+, -COOH, -COSH, -COOR1.1, -COSR1.1,
wobei R1.1 = -H, C1-10 Alkyl, C1-10 Aralkyl bzw. Aryl,
wobei R2 = -H, -OR1.1, -Hal (-F -Cl, -Br, -J),
-NR2.1R2.2, -Am, -O-Am, -S-Am,
15 wobei R3 = -H, -OR1.1, -Hal (-F -Cl, -Br, -J),
-NR2.1R2.2, -Am, -O-Am, -S-Am,
wobei R2.1 = -H, C1-10 Alkyl, C1-10 Aralkyl bzw. Aryl,
wobei R2.2 = -H, C1-10 Alkyl, C1-10 Aralkyl bzw. Aryl,
wobei R2.1 und R2.2 gleich oder verschieden sein können,
20 wobei n und m gleich oder verschieden und 0 bis 10 sein können,
wobei o und p gleich oder verschieden und 0 bis 3 sein können,
wobei o > 0 ist, wenn n und m = 0 sind,
25 wobei R2 und R3 für Cn und/oder Cm gleich oder verschieden sein können,
wobei R2 für jedes Cx=1...n gleich oder verschieden sein kann,
wobei R3 für jedes Cy=1...m gleich oder verschieden sein kann,
30 wobei -Am einen Aminosäurenrest darstellt,
wobei q und r = 0 oder 1 sowie gleich oder verschieden sind,

19

wobei $-O_1-$ und/oder $-O_2-$ auch durch $-S_1-$ bzw. $-S_2-$ ersetzt sein kann,
wobei $-NR2.1R2.2$ ersetzt sein kann durch lineares oder verzweigtes $-C1-C20$ Alkyl, Aalkyl oder Aryl,
5 oder ein physiologisch verträgliches Salz einer solchen Verbindung.

10 2. Verbindung nach Anspruch 1, wobei $R1 = -CN$ ist.

3. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei $R2$ zumindest einfach als $-Am$ vorliegt, wobei $-Am$ vorzugsweise einen Aminosäurenrest einer essentiellen Aminosäure darstellt,
15 wobei insbesondere $q = 0$ und $r = 1$ oder $q = 1$ und $r = 0$ oder $q = 1$ und $r = 1$, $m = 1$, $R3 = -H$, $n = o = p = 0$, $R2.1 = R2.2 = -H$ ist.

20 4. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei $n = o = p = 0$ ist, wobei $m = 0$ bis 4 ist, wobei $R2 = R3 = -H$ ist, wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist.

25 5. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei $m = p = 0$ ist, wobei $o = 1$ ist, wobei $n = 0$ bis 4 ist, wobei $R2 = H$ ist, wobei $R3 = -H$ oder $-Hal$ im Falle von $Cx=1$ ist, wobei $R3 = -H$ ist für alle $Cx=n>1$, wobei $R2.1 = R2.2 = -H$ ist, wobei $q = 0$ und $r = 1$ ist.

30

6. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei $m = 1$ bis 4 ist, wobei $n = o = p = 0$ ist, wobei $R2 = H$ ist, wobei

20

R3 = -H oder -Hal im Falle von Cy=1 ist, wobei R3 = -H ist für alle Cy=m>1, wobei R2.1 = R2.2 = -H ist, wobei q = 0 und r = 1 ist.

5

7. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei o = p = 1 ist, wobei m = 0 ist, wobei n = 0 bis 4 ist, wobei R2 = R3 = -H ist, wobei R2.1 = R2.2 = -H ist, wobei q = 0 und r = 1 ist.

10

8. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei n = p = 0 ist, wobei o = 1 ist, wobei m = 0 bis 4 ist, wobei R2 = R3 = -H ist, wobei R2.1 = R2.2 = -H ist, wobei q = 0 und r = 1 ist.

15

9. Verbindung nach Anspruch 1 oder 2, wobei m = p = 0 ist, wobei o = 1 ist, wobei n = 1 bis 4 ist, wobei R2 = R3 = -H ist, wobei R2.1 = R2.2 = -H ist, wobei q = 0 und r = 1 ist.

20

10. Verbindung nach einem der Ansprüche 4 bis 9, wobei ein R2 durch -Am ersetzt ist.

25

11. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung einer oder mehrerer Erkrankungen aus der Gruppe bestehend aus "Krebs, chronische Entzündungen, Asthma, Arthritis, Osteoarthritis, chronische Polyarthrititis, rheumatische

30

21

Arthritis, Inflammatory bowel disease, degenerative Gelenkserkrankungen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises mit Knorpelabbau, Sepsis, Autoimmunerkrankungen, Typ I Diabetes, Hashimoto-Thyreoiditis, 5 Autoimmunthrombozytopenie, Multiple Sklerose, Myasthenia gravis, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Morbus Crohn, Uveitis, Psoriasis, Kollagenosen, Goodpasture-Syndrom, Erkrankungen mit gestörter 10 Leukozyten-Adhäsion, Cachexie, Erkrankungen durch erhöhte TNFalpha Konzentration, Diabetes, Adipositas, bakterielle Infektionen, insbesondere mit resistenten Bakterien".

15 12. Pharmzeutische Zusammensetzung, wobei eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 10 mit einem oder mehreren physiologisch verträglichen Hilfstoffen und/oder Trägerstoffen gemischt und galenisch zur lokalen, insbesondere oralen, oder systemischen, insbesondere i.v., Gabe hergerichtet ist. 20

13. Verwendung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur in vitro Hemmung von Pyruvatkinase, Asparaginase, Serindehydratase, Transaminasen, Desaminasen, und/oder Glutaminasen. 25

30

14. Verwendung von N-(4'-trifluoromethylphenyl)-5-methyl-
isoxazole-4-carboxamid und/oder natürlichen aktiven
Metaboliten hiervon, insbesondere A 77 1726, zur Her-
stellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur
5 Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere von
soliden Tumoren bzw. Tumorgeweben oder Tumorzellen
enthaltenden Geweben.

10

15

20

25

30

23

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft Verbindungen zur Modulation des Glykolyse Enzym-Komplexes und des Transaminase-

- 5 Komplexes, pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend solche Verbindungen sowie Verwendungen von solchen Verbindungen zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Behandlung verschiedener Krankheiten.

10

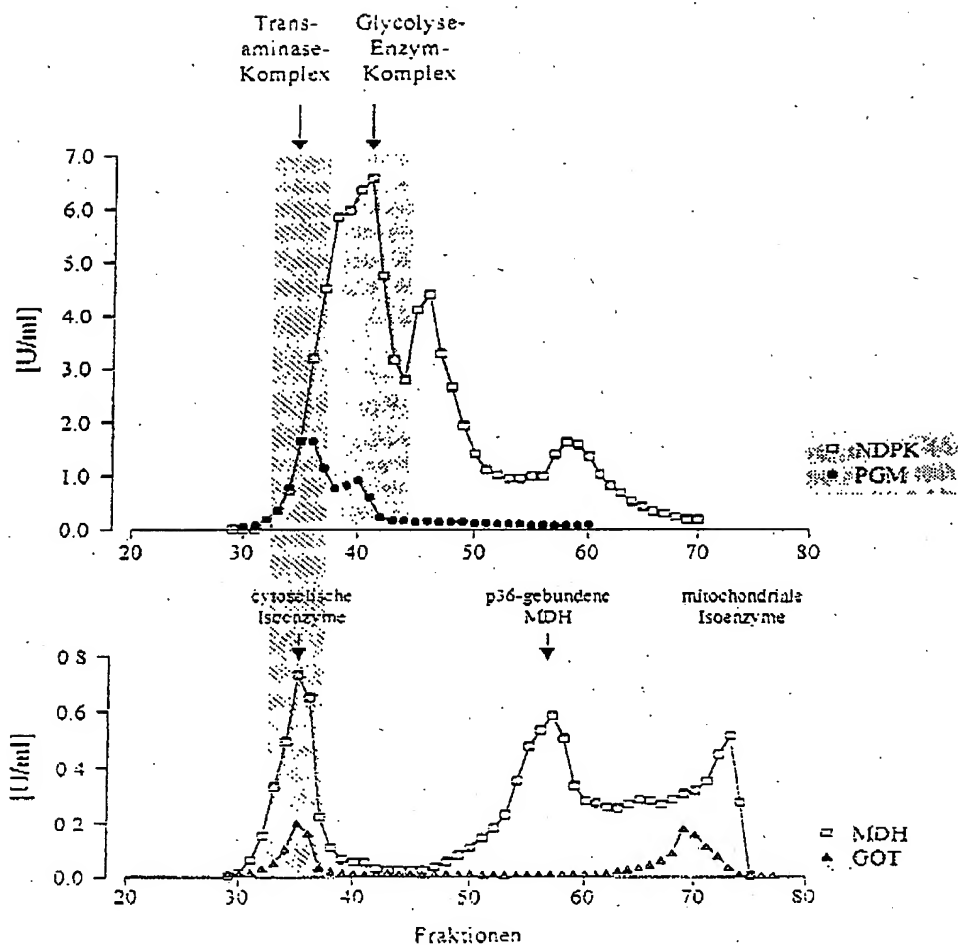
15

20

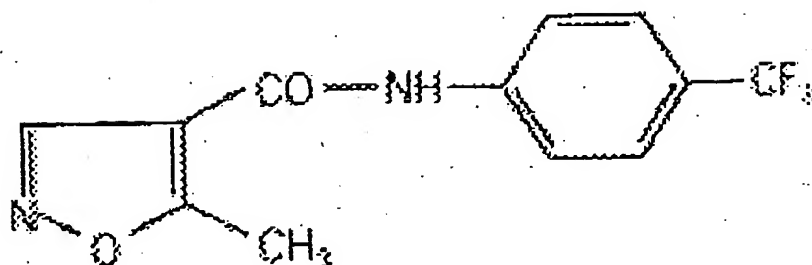
25

30

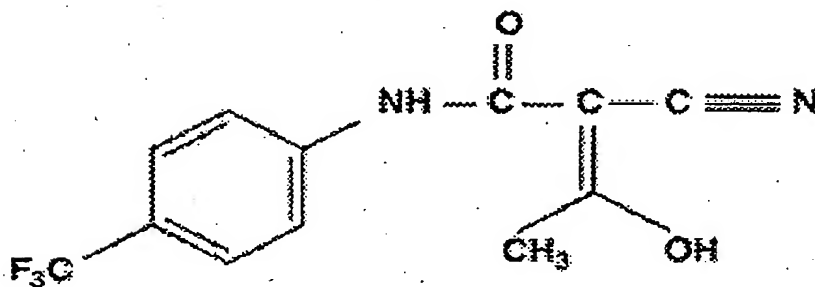
FIGUR 1



Formel 10



Formel 11



A77 1726 (M1)